



DEUTSCHES
PATENTAMT

12 Patentschrift
10 DE 195 26 533 C 2

51 Int. Cl.⁸:
C 12 M 1/36
C 12 M 1/34
C 12 M 1/04
C 12 Q 1/18

21 Aktenzeichen: 195 26 533.5-41
22 Anmeldetag: 20. 7. 95
23 Offenlegungstag: 23. 1. 97
24 Veröffentlichungstag der Patenterteilung: 5. 6. 97

Innerhalb von 3 Monaten nach Veröffentlichung der Erteilung kann Einspruch erhoben werden

73 Patentinhaber:

Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung e.V., 80636 München, DE

74 Vertreter:

PFENNING MEINIG & PARTNER, 80336 München

72 Erfinder:

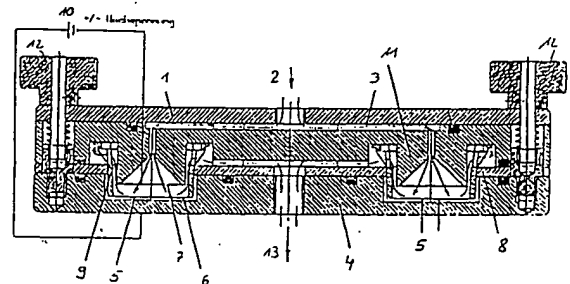
Ramm, Doris, Dipl.-Biol. Dr., 30625 Hannover, DE; Pohlmann, Gerhard, Dipl.-Chem. Dr., 30627 Hannover, DE; Koch, Wolfgang, Dipl.-Phys., Dr., 31634 Steimbke, DE; Windt, Horst, Dipl.-Ing. (FH), 30938 Burgwedel, DE; Lödging, Hubert, Dipl.-Ing. (FH), 31275 Lehrte, DE; Ilgen, Bert, Dipl.-Ing., 30938 Burgwedel, DE

56 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit in Betracht gezogene Druckschriften:

US 53 08 758
WO 90 04 645 A1

54 Expositionsvorrichtung

57 Expositionsvorrichtung für mit gas- und/oder partikelförmigen Beimengungen angereicherte Gasgemische auflebende Zellkulturen, bei der das Gasgemisch über ein Zuleitungssystem direkt an die auf mindestens einem Träger angeordneten lebenden Zellkulturen führbar ist, wobei das Nährmedium über ein weiteres Zuleitungssystem (5) von unten durch den Träger an die Zellkulturen (6) führbar ist, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger als permeable Membran ausgebildet und das Gasleitungssystem für das angereicherte Gasgemisch so ausgebildet ist, daß es von oben auf die Zellkulturen (6) exponierend wirkt und oberhalb der Zellkulturen abgeführt wird.



DE 195 26 533 C 2

DE 195 26 533 C 2

Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine Expositionsvorrichtung für mit gas- und/oder partikelförmigen Beimengungen, insbesondere Zigarettenrauch, angereicherte Gasgemische auflebende Zellkulturen.

Es ist bekannt, lebende Zellkulturen dem Einfluß toxiologisch oder in anderer Form auf diese wirkenden gas- oder partikelförmigen Beimengungen auszusetzen, um deren Wirkung auf die lebenden Zellen zu erforschen.

Hierbei treten häufig Probleme bei der Dosierung der Beimengungen auf und es ist schwierig festzustellen, mit welcher Menge die Zellkulturen tatsächlich exponiert worden sind. Ein weiteres Problem ergibt sich dadurch, daß die lebenden Zellen mit einer Nährlösung versorgt werden müssen, die dem Einfluß der Beimengungen im Gasgemisch soweit als möglich entzogen sein sollen.

Auch die in der US 5 308 758 beschriebene Lösung weist diesen Nachteil auf. Dabei wird biologisches Material ebenfalls mit Gas exponiert. Dort wird aber beschrieben, daß die Austrocknung und damit das Absterben des biologischen Materials verhindert werden soll, in dem die Kammer in der das biologische Material exponiert wird, zusätzlich befeuchtet wird. Im übrigen wird der exponierende Gasstrom durch die Probe und damit auch durch die Nährlösung geführt.

Aus der WO 90/04645 A1 sind ein Verfahren und eine Vorrichtung bekannt, bei der lebende Zellkulturen eingesetzt werden. Bei dieser Vorrichtung sind jedoch die lebenden Zellkulturen in einer Durchflußkammer angeordnet, bei der die lebenden Zellkulturen sowohl mit dem zu untersuchenden Medium als auch mit der Nährlösung in Kontakt stehen. Diese Anordnung führt deshalb auch zu Meßungenauigkeiten.

Es ist daher Aufgabe der Erfindung, eine Expositions- vorrichtung zu schaffen, mit der eine dosierte Exponierung lebender Zellkulturen mit gas- und/oder partikelförmigen Beimengungen angereicherten Gasgemischen, insbesondere Zigarettenrauch, möglich ist und eine geringe Beeinträchtigung bei der Zuführung eines Nährmediums hervorgerufen wird, zu schaffen.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe durch die Merkmale des Anspruchs 1 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen und Weiterbildung der erfindungsgemäßen Lösung ergeben sich bei Anwendung der in den untergeordneten Ansprüchen enthaltenen Merkmalen.

In der erfindungsgemäß ausgebildeten Expositions- vorrichtung können die lebenden Zellkulturen, den mit entsprechend angereichertem Gasgemisch, das in der Regel Luft sein wird, direkt ausgesetzt werden. Bei Untersuchungen des Einflusses von Zigarettenrauch auf die lebenden Zellkulturen ist die Expositionsvorrichtung an einen Raucherzeuger angeschlossen und bevorzugt in einem Inkubator aufgenommen. Im Inkubator können vorzugsweise Bedingungen von ca. 98% RH, 10% CO₂ und eine Temperatur von 37°C eingehalten werden.

Der Zigarettenraucherzeuger kann, mittels eines Computers gesteuert, einen Rauch erzeugen, der zwischen 100 bis 1500 mg je m³ Tabakrauch enthält. Das so angereicherte Luftgemisch wird über eine Zuleitung in die Expositionsvorrichtung geführt und in dieser über ein Zuleitungssystem direkt an mindestens einen Träger für die lebenden Zellkulturen geleitet. Es kann jedoch auch ein Verteilungssystem vorhanden sein, in dem die angereicherte Luft zu mehreren Trägern für gleiche Zellkulturen führbar ist. Dabei gelangt das angereicher-

te Luftgemisch von oben über das Zuleitungssystem, direkt an die einzelnen Zellkulturen. Diese sind auf einer permeablen Membran aufgebracht, die von unten mit einem weiteren Zuleitungssystem für das Nährmedium in Verbindung stehen. Das Nährmedium kann dadurch direkt an die Zellkulturen geführt werden, ohne daß es dem direkten Einfluß des exponierenden Gasgemisches ausgesetzt ist.

Das gesamte System, zu dem die Expositions- vorrichtung gehört, sichert eine statische Exposition mit frisch gelöstem Zigarettenrauch im Luftstrom. Dabei wird die Rauchpartikelkonzentration, die Zugdauer im Raucherzeuger und die tatsächliche Rauchexpositionszeit variabel, aber für einzelne Tests konstant eingestellt.

Der mit einem Schrittmotor angetriebene Raucherzeuger liefert beispielsweise 3,5 ml in 2 sec, bei einem Verdünnungsfaktor von 2,85. Der erzeugte Rauch wird aus dem bereits genannten Inkubator mit vorbereiteter Luft gemischt, wobei das Verdünnungsverhältnis mit der Förderrate des vorverdünnten Zigarettenrauches eingestellt wird. Im Zuleitungssystem, vor der Expositions- vorrichtung, kann sich ein Ventil befinden, daß geöffnet wird und das angereicherte Luftgemisch in die Expositions- vorrichtung gelangen kann. Nach einer vorgegebenen Zeit wird dieses wieder geschlossen und die Exposition der lebenden Zellkulturen mit dem mit Zigarettenrauch angereicherten Luftgemisch kann beginnen, wenn gleichzeitig ein am Luftabführungssystem befindliches Ventil geschlossen ist.

Das Nährmedium kann über ein zusätzliches Zuleitungssystem mit Hilfe einer Pumpe direkt an die permeablen Membranen, auf denen die lebenden Zellkulturen angeordnet sind, geführt werden. Die Dosierung erfolgt hierbei durch eine entsprechende Steuerung bzw. Regelung der Pumpe.

Die Bestimmung der momentanen Konzentration des beigemengten Zigarettenrauches wird mit einem Aerosolphotometer ermittelt. Dagegen kann die absolute Konzentrationsmenge, mittels Filtern mit Standardprüfverfahren ermittelt werden.

Besonders vorteilhaft ist es, um die Abscheiderate von Partikeln auf die Membranen zu erhöhen, eine elektrostatische Abscheidevorrichtung anzuordnen, die den im Luftgemisch enthaltenen Partikeln immanente Ladung ausnutzt. Die Verwendung einer solchen elektrostatischen Abscheidevorrichtung sichert eine vollständige Abscheidung auf den Membranen.

Zusätzlich kann für ungeladene Partikeln eine entsprechende Aufladungsvorrichtung vorgesehen sein, die direkt am Lufteintritt oder bereits vor der eigentlichen Expositions- vorrichtung angeordnet sein kann. Mit dieser Aufladungsvorrichtung können die Partikeln entsprechend negativ oder positiv polarisiert werden und es ist somit möglich, alle Partikeln quantitativ abzuscheiden. Bei Kenntnis der Expositionskonzentration ist dann auch die tatsächlich auf die Zellen gelangte Dosis bestimmbar, so daß die tatsächliche Exposition der Zellen gezielt beeinflußt und für nachfolgende Untersuchungen reproduzierbar nachvollzogen werden kann.

Nachfolgend soll die erfindungsgemäße Expositions- vorrichtung an einem Ausführungsbeispiel näher beschrieben werden.

Dabei zeigt die einzige Figur, eine Schnittdarstellung einer Expositions- vorrichtung unter Verwendung einer elektrostatischen Abscheidevorrichtung.

Die in der Figur dargestellte Expositions- vorrichtung ist an einen nicht dargestellten Raucherzeuger anschließbar und in einem ebenfalls nicht dargestellten

Inkubator aufgenommen. Dabei gelangt die mit Zigarettenrauch angereicherte Luft durch eine zentrale in einer Deckplatte 1 angeordnete Raucheintrittsöffnung 2, in die Vorrichtung. Die Deckplatte 1 besteht dabei aus Edelstahl und die zentrale Raucheinlaßöffnung 2 weist einen Durchmesser von 3 mm auf.

Die Deckplatte 1 ist mit einer ebenfalls aus Edelstahl bestehenden Bodenplatte 4 und einer Rauchverteilungsebene 11 mittels Schnellverschlüssen 12 verbindbar. Die aus Teflon bestehende bzw. damit beschichtete Rauchverteilungsebene 11 weist ein Zuleitungssystem 3 auf, das stern- und kanalförmig ausgebildet ist, wobei die einzelnen Kanäle 3 in sich konisch erweitert öffnenden Kammern enden und das angereicherte Luftgemisch von oben in der jeweiligen Kammer auf Zellkulturen 6 geleitet wird. Bei diesem Ausführungsbeispiel befindet sich oberhalb der Zellkulturen 6, in der jeweiligen Kammer, ein Metallsieb 7, das mit einer Hochspannungsquelle 10 verbunden ist und gemeinsam die elektrostatische Abscheideeinheit bildet.

Über ein ebenfalls kanalförmig ausgebildetes Abluftsystem, kann die mit Rauch angereicherte Luft, über einen zentralen Luftabzug 13, aus den Kammern entfernt werden.

Unterhalb der Zellkulturen sind Zu- und Abführungen 5 für das Nährmedium für die lebenden Zellkulturen vorhanden, die mit einer ebenfalls nicht dargestellten Pumpe und einem Vorratsbehälter verbunden sind.

In dieser Darstellung sind die permeablen Membranen, auf denen die Zellkulturen 6 angeordnet sind, nicht erkennbar.

Zwischen der Bodenplatte 5 und der Rauchverteilungsebene 11, werden an den jeweiligen Kammern Trägerplatten 8 für Transwells 9 gehalten.

Patentansprüche

1. Expositionsvorrichtung für mit gas- und/oder partikelförmigen Beimengungen angereicherte Gasgemische auflebende Zellkulturen, bei der das Gasgemisch über ein Zuleitungssystem direkt an die auf mindestens einem Träger angeordneten lebenden Zellkulturen führbar ist, wobei das Nährmedium über ein weiteres Zuleitungssystem (5) von unten durch den Träger an die Zellkulturen (6) führbar ist, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger als permeable Membran ausgebildet und das Gasleitungssystem für das angereicherte Gasgemisch so ausgebildet ist, daß es von oben auf die Zellkulturen (6) exponierend wirkt und oberhalb der Zellkulturen abgeführt wird.
2. Expositionsvorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Zellkulturen in einer elektrostatischen Abscheidevorrichtung angeordnet sind, die aus einem Metallsieb (7) und einer Bodenplatte (4), die mit einer Hochspannungsquelle (10) verbunden sind, gebildet ist.
3. Expositionsvorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß im Bereich des Eintritts (2) des angereicherten Gasgemisches eine Aufladungsvorrichtung angeordnet ist.
4. Verwendung der Expositionsvorrichtung nach Anspruch 1 zur Exposition von lebenden Zellkulturen mit Zigarettenrauch.

Hierzu 1 Seite(n) Zeichnungen

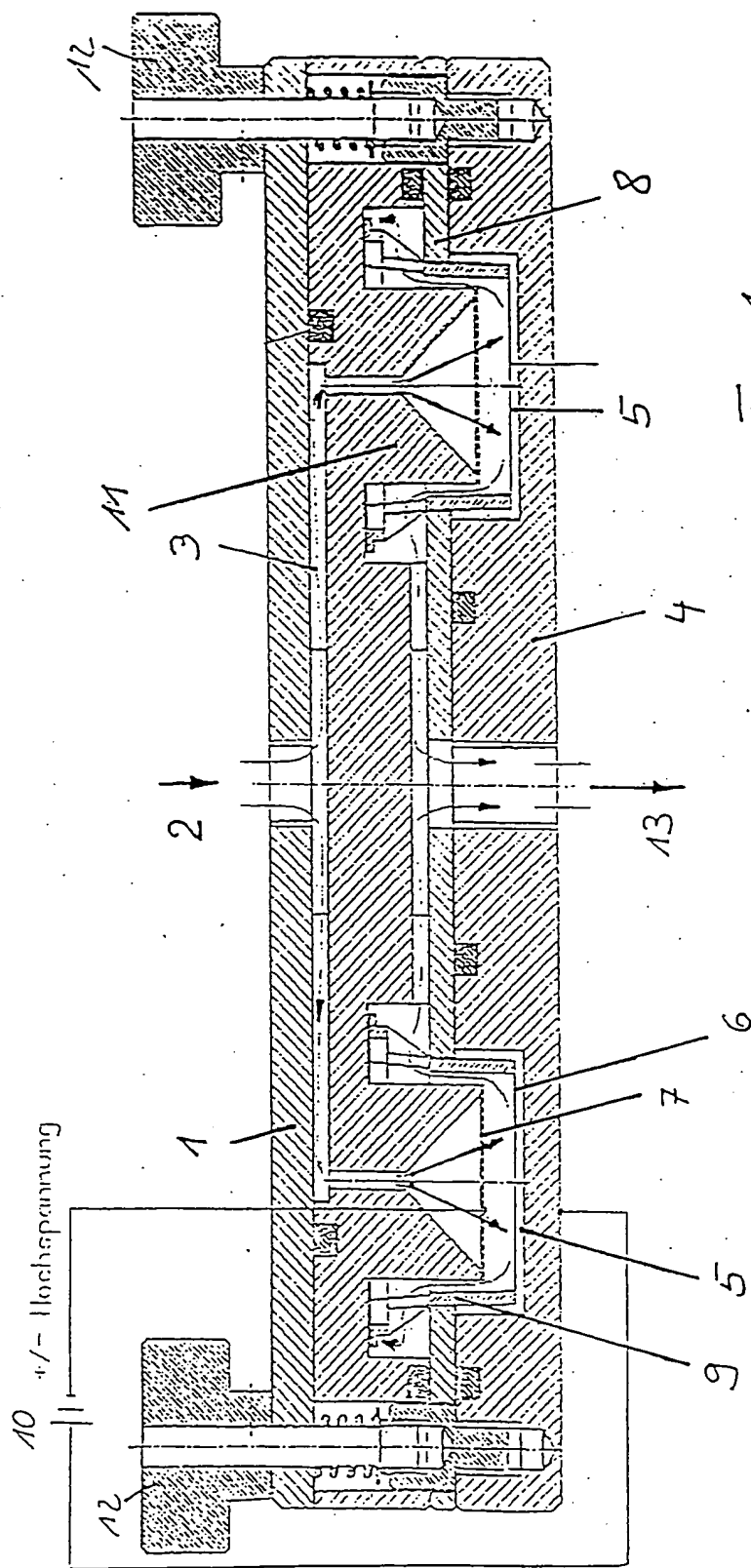


Fig. 1